# 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 和维生素 $B_2$ 的需要量

陈俊宏　何雪曼　邓海峰　李晓斌　刘　振　马　军　甘建荣　唐雪梅　杨开伦*

（新疆农业大学新疆肉乳用草食动物营养重点实验室，乌鲁木齐 830052）

摘　要：本试验旨在研究不同维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 摄入量对 12 月龄伊犁马血液、尿液相关指标的影响，以得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 的需要量。试验选取 12 月龄 ±5 d、平均体重（245.28±18.36） kg 的伊犁马公马 35 匹，随机分为 5 组，每组 7 匹，分别为试验Ⅰ组、试验Ⅱ组、试验Ⅲ组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组，马匹饲喂相同的基础饲粮，并分别添加 0、16、32、48 和 64 mg/(匹・d)的维生素 $B_1$ 和 0、10、20、30 和 40 mg/(匹·d)的维生素 $B_2$，进行为期 20 d 的饲养试验。试验Ⅰ组、试验Ⅱ组、试验Ⅲ组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组实际摄入维生素 $B_1$ 量分别为 19.00、33.49、48.27、62.96、77.53 mg/（匹・d），实际摄入维生素 $B_2$ 量分别为 21.95、31.68、41.77、51.53、61.26 mg/（匹・d）。结果表明：随着实际摄入维生素 $B_1$ 量的增加，伊犁马血浆维生素 $B_1$ 含量、红细胞转酮酶活性（E-TKA）、尿液维生素 $B_1$ 排出量逐渐升高，焦磷酸硫胺素(TPP)效应逐渐降低。试验Ⅰ组血浆维生素 $B_1$ 含量显著低于试验Ⅲ组（$P<0.05$），极显著低于试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P<0.01$）；试验Ⅰ组 E-TKA 极显著低于试验Ⅲ组、试验Ⅳ组和试验Ⅴ组（$P<0.01$）；试验Ⅰ组 TPP 效应显著高于试验Ⅲ组（$P<0.05$），极显著高于试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P<0.01$）；试验Ⅰ组尿液维生素 $B_1$ 排出量极显著低于试验Ⅲ组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P<0.01$）。随着实际摄入维生素 $B_2$ 量的增加，伊犁马血浆维生素 $B_2$ 含量出现波动变化，红细胞谷胱甘肽还原酶活性系数(E-GRAC)逐渐降低，尿液维生素 $B_2$ 排出量逐渐增加。试验Ⅰ组血浆维生素 $B_2$ 含量显著低于试验Ⅲ组、试验

收稿日期：2016-07-12

基金项目："十二五"农村领域国家科技计划课题（2012BAD45B02）

作者简介：陈俊宏（1991-），男，甘肃张掖人，硕士研究生，研究方向为草食动物动物营养代谢。E-mail： 63793760@qq.com

*通信作者：杨开伦，教授，博士生导师，E-mail： yangkailun2002@aliyun.com

Ⅳ组（$P$<0.05），极显著低于试验Ⅱ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；试验Ⅰ组 E-GRAC 极显著高于试验Ⅱ组、试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；试验Ⅰ组尿液维生素 $B_2$ 排出量极显著低于试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）。综合评价各指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹·d），对维生素 $B_2$ 的需要量为 31.68 mg/（匹·d）。

关键词：伊犁马；维生素 $B_1$；硫胺素；维生素 $B_2$；核黄素；血浆；尿液；需要量

中图分类号：S816

维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 是维持动物正常生理功能的一类微量有机物质[1]。维生素 $B_1$ 又称硫胺素，在动物体内主要以硫胺素单磷酸(thiamine monophosphate,TMP)、焦磷酸硫胺素(thiamine pyrophosphate,TPP)、硫胺素三磷酸(thiamine triphosphate,TTP)3 种形式存在[2]，维生素 $B_1$ 以 TPP 的形式存在并以辅酶的形式参与调节体内糖、脂肪和蛋白质的代谢[3]；维生素 $B_2$ 又称核黄素，在体内主要以黄素单核苷酸（flavin mononucleotide,FMN）和黄素腺嘌呤二核苷酸（flavin adenine dinucleotide,FAD）的形式存在，它们是多种氧化酶的辅助因子，在生物氧化过程中参与氢的传递，在能量代谢中，促进碳水化合物、蛋白质、脂肪、核酸的代谢[4]。根据营养学研究，马匹长期缺乏维生素 $B_1$ 出现生长受阻现象、被毛光泽下降、痢疾、精神萎靡、神经错乱、运动失调等症状[5]；马匹长期缺乏维生素 $B_2$ 出现眼睑炎、食欲不振、体重减轻等症状[6]。伊犁马是我国著名的培育品种之一，具有性情温顺、体质结实紧凑、遗传性能较稳定、力速兼备等特点。但是在伊犁马的饲养方面没有系统的科学方法，对于营养物质明确的需要量尚不完善，特别是对于维生素类营养物质的适宜需要量没有明确的参考依据。因此，本试验以 12 月龄伊犁马公马为研究对象，通过在饲粮中添加不同水平的维生素 $B_1$、维生素 $B_2$，综合评定维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 摄入量对血浆中维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 的含量，红细胞转酮酶活性（erythrocyte transketolase activity,E-TKA），焦磷酸硫胺素(thiamin pyrophosphate,TPP)效应，红细胞谷胱甘肽还原酶活性系数(erythrocyte glutathione reductase activity coefficient,E-GRAC)，尿液维生素 B1、维生素 B2 排出量的影响，从而确定 12 月龄

伊犁马对维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 的需要量，为今后对伊犁马科学饲养提供参考依据。

## 1. 材料与方法

### 1.1 试验动物与试验设计

本试验选择 12 月龄±5 d、平均体重为（245.28±18.36） kg 的伊犁马公马 35 匹，随机分为 5 组，分别为试验Ⅰ组、试验Ⅱ组、试验Ⅲ组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组，每组 7 匹。每天每匹马饲喂 2 kg 精料补充料，自由采食粗饲料（苜蓿干草）。试验Ⅰ组、试验Ⅱ组、试验Ⅲ组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组每天每匹马分别添加 0、16、32、48 和 64 mg 的维生素 $B_1$（纯度为 99.1%，购自江西天新药业有限公司）和 0、10、20、30 和 40 mg 的维生素 $B_2$（纯度为 99%，购自广济药业有限公司），进行为期 20 d 的饲养试验。

### 1.2 饲养管理

在试验期所有试验马匹采用分槽分栏饲喂，自由采食粗饲料，自由饮水；将精料补充料平均分为 4 份，分别进行补喂；将每匹马需要添加的维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 分别装入胶囊，补喂精料补充料的同时进行添加。在试验第 15~20 天记录每匹马每天的采食量及收集每匹马每天的尿样，并在试验第 20 天采集血样。试验马匹的饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1 饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the diet （DM basis） %

| 项目 Items | 含量 Content | 营养水平 Nutrient levels | 含量 Content |
|---|---|---|---|
| 玉米 Corn | 10.42 | 有机物 OM | 94.57 |
| 麸皮 Wheat bran | 1.88 | 粗蛋白质 CP | 10.80 |
| 次粉 Wheat middlings | 1.88 | 中性洗涤纤维 NDF | 44.12 |
| 石粉 Limestone | 0.21 | 酸性洗涤纤维 ADF | 27.90 |
| 大豆粕 Soybean meal | 5.42 | 粗脂肪 EE | 6.8 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 食盐 NaCl | 0.41 | 粗纤维 CF | 31.67 |
| 预混料 Premix | 0.21 | 无氮浸出物 NFE | 45.30 |
| 粗饲料 Roughage | 79.57 | 消化能 DE/(MJ/kg) | 16.22 |
| 合计 Total | 100.00 | 钙 Ca | 0.74 |
| | | 磷 P | 0.33 |
| | | 维生素 $B_1$ $VB_1$/(mg/kg) | 2.09 |
| | | 维生素 $B_2$ $VB_2$/(mg/kg) | 2.40 |

预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet:VA 480 IU，$VB_6$ 48.96 mg，VD 70.4 IU，VE 21 333.36 IU，泛酸 pantothenic acid 20.46 mg，烟酰胺 nicotinamide 484.85 mg，Cu (as copper sulfate) 10.58 mg，Fe (as ferrous sulfate) 35.56 mg，Mn (as manganese sulfate) 33.54 mg，Zn (as zinc sulfate) 30.92 mg，I (as potassium iodide) 2.46 mg，Se ( as sodium selenite) 5.93 mg，Co (as cobalt chloride) 1.11 mg。

## 1.3 样品、数据的采集

### 1.3.1 数据的采集

在试验第 15~20 天，分别记录每天每匹马的采食量及排尿量。

### 1.3.2 样品的采集及保存

#### 1.3.2.1 饲草料样品的采集及保存

在第 14 天采集马匹精料补充料样品及粗饲料样品各 1 kg，将风干的样品经粉碎机 40 目粉碎，待测。

#### 1.3.2.2 尿样的采集及保存

在试验第 15~20 天全天收集马匹尿液，将全天尿液充分混匀，量取尿液总体积的 10% 为待测样品，记录、-20 ℃冷冻保存。最终将同一匹马 6 d 的尿样全部混匀，于-20 ℃避光冷冻保存，待测。

#### 1.3.2.3 血样的采集及保存

在试验第 20 天早晨空腹颈部静脉采用肝素钠抗凝管采集血样，将血样迅速以 1 500×*g* 离心 15 min 后分离血浆，于-20 ℃避光冷冻保存。

1.3.2.4 血红细胞样的采集及保存

在试验第 20 天早晨空腹颈部静脉采用肝素钠抗凝管采集血样，将血样迅速以 1 500×*g* 离心 15 min 后弃去血浆层，在管中加入 10 mL 生理盐水，用塑料滴管轻轻吹吸混匀，再以 429×*g* 离心 10 min，弃上清液得到红细胞，以此方法重复 2 次后得到红细胞，于-20 ℃避光冷冻保存。

## 1.4 指标测定

### 1.4.1 维生素 $B_1$ 含量的测定

血浆的处理：取完全解冻、混匀后的血浆样品 500 μL，加入 100 μL 3 mol/L 三氯乙酸溶液，充分混合均匀，4 286×*g* 离心 10 min 后吸取上清液 300 μL 加入 900 μL 水饱和乙醚混匀，混匀后 4 286×*g* 离心 5 min，吸取下层液 200 μL 进行衍生[7]。取室温解冻、充分混匀后的尿原液，用针头式过滤器过滤后稀释 100 倍，吸取 200 μL 进行衍生[8]。称取饲草料样品 1.00 g 置于 50 mL 棕色容量瓶中，加入 0.1 mol/L 盐酸溶液 35 mL，超声波水浴中超声 3 min，在高压灭菌锅内 121 ℃保持 30 min，取出后轻摇数次，加入混合酶液（淀粉酶和木瓜蛋白酶各 3 g 溶于 100 mL 2 mol/L 乙酸钠溶液中）37 ℃恒温培养箱中 12 h，取出冷却至室温后加水定容至 50 mL，样品经 4 286×*g* 离心 3 min，取上清液 200 μL 进行衍生[9]。衍生时在处理液中加入 40 μL 12 mmol/L 的碱性铁氰化钾溶液，涡旋使其充分混匀 15 s；加入 8 μL 5 mol/L 磷酸终止反应。色谱条件[7]：PRP-1 反相柱（250 mm×4.6 mm，10 μm）；流动相为 15 mmol/L 磷酸二氢钠：四氢呋喃=90:10（*V*/*V*）；柱温 25 ℃；流速 0.5 mL/min；一元等梯度洗脱。检测波长：激发波长（λex）=365 nm，发射波长（λem）=435 nm。进样量 10 μL。

### 1.4.2 E-TKA 及 TPP 效应的测定

参照 Takeuchi 等[10]的方法，分别在 540、510 nm 的波长下比色，利用 7-景天庚酮糖的

含量表示 E-TKA；TPP 效应是通过体外试验测定加入 TPP 前后的 E-TKA，两者之差占基础活性的百分率。

#### 1.4.3 维生素 $B_2$ 含量的测定

取充分解冻、混匀后的血浆样品 0.2 mL，加入等体积的 15 mmol/L 10%乙酸镁，充分混匀静置 5 min，65 ℃水浴 15 min，加 0.1 mL 10%三氯乙酸，4 286×*g* 离心 10 min 后取上清液，避光放置于 4 ℃冰箱，供高效液相色谱（HPLC）分析[11]。取室温解冻、充分混匀后的尿原液，用针头式过滤器过滤，滤液稀释 5 倍后进行 HPLC 分析[12]。色谱条件[11]：XB-C18(4.6 mm×100 mm，5 μm）色谱柱；流动相为 10 mmol/L pH 3.4 的磷酸钾缓冲液:乙腈=85:15（*V*/*V*）；柱温 25 ℃；流速 1 mL/min；一元等梯度洗脱。检测波长：λex=445 nm，λem=530 nm。进样量 10 μL。

#### 1.4.4 E-GRAC 的测定

参照李丽花[13]的方法进行。

### 1.5 数据处理

试验结果均以平均值±标准差（mean±SD）表示。试验数据采用 SPSS 18.0 软件的单因素方差分析(one-way ANOVA)进行方差分析，各组间的多重比较采用 Duncan 氏法进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同维生素 $B_1$ 摄入量对 12 月龄伊犁马血浆维生素 $B_1$ 含量、E-TKA、TPP 效应及尿液维生素 $B_1$ 排出量的影响

由表 2 可知，随着实际摄入维生素 $B_1$ 量的增加，12 月龄伊犁马血浆维生素 $B_1$ 含量逐渐升高，以试验Ⅰ组血浆维生素 $B_1$ 含量(6.18 μg/L)最低，显著低于试验Ⅲ组（$P$<0.05），极显著低于试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；当实际摄入维生素 $B_1$ 量达到或超过 33.49 mg/d（试验Ⅱ组）时，血浆维生素 $B_1$ 含量达到较高水平（7.04~8.12 μg/L），试验Ⅱ组、试验Ⅲ组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组之间差异均不显著（$P$＞0.05），即血浆维生素 $B_1$ 含量从试验Ⅱ组之后

逐渐趋于稳定。以血浆维生素 $B_1$ 含量为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 33.49 mg/（匹 • d）。

随着实际摄入维生素 $B_1$ 量的增加，12 月龄伊犁马 E-TKA 逐渐提高，以试验Ⅰ组 E-TKA（10.20 U/mL 红细胞）最低，极显著低于试验III组、试验Ⅳ组和试验Ⅴ组（$P$<0.01）；当实际摄入维生素 $B_1$ 达到或超过 48.27 mg/d（试验III组）时，E-TKA 达到较高水平（17.43~21.29 U/mL 红细胞），试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组之间差异不显著（$P$＞0.05），即 E-TKA 从试验III组之后逐渐趋于稳定。以 E-TKA 为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹 • d）。

随着实际摄入维生素 $B_1$ 量的增加，12 月龄伊犁马 TPP 效应逐渐降低，以试验Ⅰ组 TPP 效应（53.83%）最高，显著高于试验III组（$P$<0.05），极显著高于试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；当实际摄入维生素 $B_1$ 量达到或超过 48.27 mg/d（试验III组）时，TPP 效应达到较低水平（6.62%~30.05%）。以 TPP 效应为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹 • d）。

随着实际摄入维生素 $B_1$ 量的增加，12 月龄伊犁马尿液维生素 $B_1$ 排出量逐渐增加，以试验Ⅰ组尿液维生素 $B_1$ 排出量（2.03 mg/d）最少，极显著低于试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；当实际摄入维生素 $B_1$ 量达到或超过 48.27 mg/d（试验III组）时，尿液维生素 $B_1$ 排出量达到较高水平（6.41~7.34 mg/d）。以尿液维生素 $B_1$ 排出量为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹 • d）。

表 2　不同维生素 $B_1$ 摄入量对 12 月龄伊犁马血浆维生素 $B_1$ 含量、E-TKA、TPP 效应以及尿液维生素 $B_1$ 排出量的影响

Table 2　Effects of different of $VB_1$ intake on plasma $VB_1$ content, E-TKA, TPP-effect and urinary $VB_1$ content of of 12-month-old *Yili* horses

| 项目 Items | 试验Ⅰ组 | 试验Ⅱ组 | 试验III组 | 试验Ⅳ组 | 试验Ⅴ组 |
|---|---|---|---|---|---|

| | Trial group Ⅰ | Trial group Ⅱ | Trial group Ⅲ | Trial group Ⅳ | Trial group Ⅴ |
|---|---|---|---|---|---|
| 维生素 $B_1$ 添加量 $VB_1$ supplementation/[mg/（匹·d）] | 0 | 16 | 32 | 48 | 64 |
| 干物质采食量 DMI/(kg/d) | 9.22±0.87 | 9.04±0.89 | 9.10±0.78 | 9.10±0.37 | 8.99±0.42 |
| 实际摄入维生素 $B_1$ 量 Practical intake of $VB_1$/[mg/（匹·d）] | 19.00±1.08 | 33.49±1.10 | 48.27±0.97 | 62.96±0.46 | 77.53±0.52 |
| 血浆维生素 $B_1$ 含量 Plasma $VB_1$ content/（μg/L） | $6.18\pm0.26^{Bb}$ | $7.04\pm0.68^{ABab}$ | $7.59\pm0.83^{ABa}$ | $8.39\pm1.08^{Aa}$ | $8.12\pm1.51^{Aa}$ |
| 红细胞转酮酶活性 E-TKA /(U/ mL 红细胞) | $10.20\pm2.76^{Cb}$ | $12.13\pm3.83^{CBb}$ | $17.43\pm5.66^{ABa}$ | $20.81\pm2.33^{Aa}$ | $21.29\pm3.2^{Aa}$ |
| TPP 效应 TPP-effect/% | $53.83\pm13.63^{Aa}$ | $41.87\pm18.06^{Aab}$ | $30.05\pm16.53^{ABbc}$ | $12.25\pm11.9^{Bcd}$ | $6.62\pm6.11^{Bd}$ |
| 尿液维生素 $B_1$ 排出量 Urinary $VB_1$ output/(mg/d) | $2.03\pm0.30^{Bc}$ | $3.07\pm0.49^{Bc}$ | $6.41\pm1.21^{Ab}$ | $6.53\pm2.00^{Ab}$ | $7.34\pm1.77^{Aa}$ |

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），不同大写字母表示差异极显著（$P<0.01$），相同或无字母表示差异不显著（$P>0.05$）。下表同。

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference ($P$<0.05), and with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P$<0.01), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P$>0.05). The same as below.

## 2.2 不同维生素 $B_2$ 摄入量对 12 月龄伊犁马血浆维生素 $B_2$ 含量、E-GRAC 及尿液维生素 $B_2$ 排出量的影响

由表 3 可知，随着实际摄入维生素 $B_2$ 量的增加，12 月龄伊犁马血浆维生素 $B_2$ 含量出现波动变化，以试验Ⅰ组血浆维生素 $B_2$ 含量(11.79 μg/L)最低，显著低于试验III组、试验Ⅳ组（$P$<0.05），极显著低于试验Ⅱ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；当实际摄入维生素 $B_2$ 量达到或超过 31.68 mg/d（试验Ⅱ组）时，血浆维生素 $B_2$ 含量达到较高水平（14.12~15.19 μg/L），试验Ⅱ组、试验III组、试验Ⅳ组和试验Ⅴ组之间差异均不显著（$P$＞0.05），即血浆维生素 $B_2$ 含量从试验Ⅱ组之后逐渐趋于稳定。以血浆维生素 $B_2$ 含量为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_2$ 的需要量为 31.68 mg/（匹·d）。

随着实际摄入维生素 $B_2$ 量的增加，12 月龄伊犁马 E-GRAC 逐渐降低，以试验Ⅰ组 E-GRAC(1.03)最高，极显著高于试验Ⅱ组、试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；当实际摄入维生素 $B_2$ 量达到或超过 31.68 mg/d（试验Ⅱ组）时，E-GRAC 达到较低水平（0.68~0.72），试验Ⅱ组、试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组之间差异均不显著（$P$＞0.05），即 E-GRAC 从试验Ⅱ组之后逐渐趋于稳定。以 E-GRAC 为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_2$ 的需要量为 31.68 mg/（匹·d）。

随着实际摄入维生素 $B_2$ 量的增加，12 月龄伊犁马尿液维生素 $B_2$ 排出量逐渐增加，以试验Ⅰ组尿液维生素 $B_2$ 排出量（3.6 mg/d）最少，极显著低于试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组（$P$<0.01）；当实际摄入维生素 $B_2$ 量达到或超过 31.68 mg/d（试验Ⅱ组）平时，尿液维生素 $B_2$ 排出量达到较高水平（5.23~7.10 mg/d），试验III组、试验Ⅳ组、试验Ⅴ组之间差异均不显著（$P$＞0.05），即尿液维生素 $B_2$ 排出量从试验Ⅱ组之后逐渐趋于稳定。以尿液维生素

$B_2$排出量为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_2$的需要量为 31.68 mg/（匹・d）。

表 3　不同维生素 $B_2$摄入量对 12 月龄伊犁马血浆维生素 $B_2$含量、E-GRAC 及尿液维生素 $B_2$排出量的影响

Table 3　Effects of different $VB_2$ intake on plasma $VB_2$ content, E-GRAC and urinary $VB_2$ output of 12-month-old *Yili* horses

| 项目 Items | 试验Ⅰ组 Trial group Ⅰ | 试验Ⅱ组 Trial group Ⅱ | 试验Ⅲ组 Trial group Ⅲ | 试验Ⅳ组 Trial group Ⅳ | 试验Ⅴ组 Trial group Ⅴ |
|---|---|---|---|---|---|
| 维生素 $B_2$添加量 $VB_2$ supplementation/[mg/（匹・d）] | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 |
| 干物质采食量 DMI/(kg/d) | 9.22±0.87 | 9.04±0.89 | 9.1±0.78 | 9.1±0.37 | 8.99±0.42 |
| 实际摄入维生素 $B_2$量 Practical intake of $VB_2$/[mg/（匹・d）] | 21.95±1.37 | 31.68±1.39 | 41.77±1.23 | 51.53±0.48 | 61.26±0.12 |
| 血浆维生素 $B_2$含量 plasma 维生素 $B_2$ content/(μg/L) | $11.79±1.53^{Bb}$ | $15.19±0.99^{Aa}$ | $14.12±1.27^{ABa}$ | $14.29±2.24^{ABa}$ | $15.01±2.77^{Aa}$ |
| 红细胞谷胱甘肽还原酶活性系数 E-GRAC | $1.03±0.30^{Aa}$ | $0.72±0.22^{Bb}$ | $0.72±0.05^{Bb}$ | $0.69±0.10^{Bb}$ | $0.68±0.04^{Bb}$ |
| 尿液维生素 $B_2$排出量 Urinary $VB_2$ output/(mg/d) | $3.60±0.39^{Bb}$ | $5.23±0.71^{Bb}$ | $6.39±1.42^{Aa}$ | $6.72±0.64^{Aa}$ | $7.10±1.79^{Aa}$ |

## 3　讨　论

### 3.1 不同维生素 $B_1$ 摄入量对血浆维生素 $B_1$ 含量、E-TKA、TPP 效应以及尿液维生素 $B_1$ 排出量的影响

维生素 $B_1$ 是一种维持正常糖代谢以及保证神经、消化系统功能正常的物质，对维持动物的生长、健康、发育、繁殖、免疫均具有十分重要的意义。马属动物维生素 $B_1$ 缺乏的临床表现是食欲不振、心率降低，慢性症状表现为腹泻、厌食症、心搏过缓、肌肉松弛抽搐、感觉过敏、共济失调和痉挛等[14-15]。因此，维生素 $B_1$ 是马属动物维持机体正常代谢不可缺少的营养物质。维生素 $B_1$ 在机体的营养状况评价常用指标有血浆维生素 $B_1$ 含量、E-TKA、TPP 效应及尿液维生素 $B_1$ 排出量等，根据不同维生素 $B_1$ 摄入量对血浆维生素 $B_1$ 含量、E-TKA、TPP 效应及尿液维生素 $B_1$ 排出量等指标的影响，从而确定动物机体对维生素 $B_1$ 的适宜需要量。Tallaksen 等[16]以血浆维生素 $B_1$ 含量为评价指标，得到 30 位酒精肝患者对维生素 $B_1$ 的需要量为 52.50 mg/d；Reinken 等[17]通过 E-TKA 和 TPP 效应评价了 1 月龄至 14 周岁儿童的维生素 $B_1$ 营养状况。Ziporin 等[18]研究发现，当大量摄入维生素 $B_1$ 时，尿液中维生素 $B_1$ 的含量迅速增加，当维生素 $B_1$ 摄入量在 0.6~2.0 mg/d 时，根据维生素 $B_1$ 摄入量对尿液维生素 $B_1$ 排出量的影响，得到 8 位健康的男青年对维生素 $B_1$ 的需要量为 0.81 mg/d。

本试验测得 5 组 12 月龄伊犁马血浆中维生素 $B_1$ 的含量分别为 6.18、7.04、7.59、8.39、8.12 μg/L，Hünsche 等[19]研究表明马匹血浆维生素 $B_1$ 的含量范围为 5.05~23.8 μg/L，本试验中各组试验马匹血浆维生素 $B_1$ 含量均在此范围内，随着实际摄入维生素 $B_1$ 量的增加，血浆中维生素 $B_1$ 的含量先增加最后逐渐趋于稳定，因此，根据不同维生素 $B_1$ 摄入量对血浆维生素 $B_1$ 含量的影响，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹・d）。

转酮酶（transketolase，TK）是动物红细胞中的一种酶，其辅酶成分是维生素 $B_1$ 的磷酸衍生物 TPP，维生素 $B_1$ 的满足程度将影响到红细胞中转酮酶活性的高低，因此，动物 E-TKA 经常用于判定动物机体的维生素 $B_1$ 营养状况；TPP 效应是通过体外试验测定加入 TPP 前后的 E-TKA 的差值得到的，加入 TPP 后，E-TKA 增加越多说明维生素 $B_1$ 缺乏越严重，TPP

效应是目前评价维生素 $B_1$ 营养状况较为常用的指标[20]。在本试验中，增加维生素 $B_1$ 摄入量增加了 E-TKA，降低了 TPP 效应，因此，根据不同维生素 $B_1$ 摄入量对 E-TKA、TPP 效应的影响，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹•d）。

饲粮中摄入的维生素 $B_1$ 经小肠吸收进入血液后主要从肾脏系统中排出，当额外添加大量的维生素 $B_1$ 时，可通过肾小球过滤作用将机体中多余的维生素 $B_1$ 随尿液排出体外[21]。由本试验结果可知，以尿液维生素 $B_1$ 排出量为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹•d）。

3.2　不同维生素 $B_2$ 摄入量对血浆维生素 $B_2$ 含量、E-GRAC 及尿液维生素 $B_2$ 排出量的影响

根据营养学研究，机体内长期缺乏维生素 $B_2$ 会影响机体基础代谢，出现生长受阻现象、严重缺乏会导致被毛粗乱、脱落，皮质溢性皮肤等症状。McDowell[22]研究表明，瘤胃发育不全的犊牛和羔羊会发生维生素 $B_2$ 缺乏症，主要表现为口腔黏膜充血、口角发炎、流涎、流泪及厌食、腹泻及生长不良等非特异性症状。因此，维生素 $B_2$ 对于动物机体有至关重要的作用。对动物机体维生素 $B_2$ 营养状况的评价指标有血浆维生素 $B_2$、FAD、FMN 的含量、红细胞中维生素 $B_2$、FAD、FMN 的含量，E-GRAC 以及尿液维生素 $B_2$ 排出量等指标[23]，这些指标是评价动物机体维生素 $B_2$ 营养状况的敏感指标，已经被广泛用于评价畜禽维生素 $B_2$ 需要量的研究中。Hustad 等[24]研究发现，以血浆维生素 $B_2$ 含量为评价指标，大于 60 岁的维生素 $B_2$ 缺乏的老人，补充维生素 $B_2$ 的量为 16 mg/d。陈金文等[25]在肉用仔鸡维生素 $B_2$ 需要量研究中，以 E-GRAC 为评价指标得到肉用仔鸡维生素 $B_2$ 需要量为 6.4 mg/d；Bates 等[26]研究表明，以 E-GRAC 为评价指标，非洲哺乳期女性需额外添加 2.0 mg/d。郭长江等[27]以尿液维生素 $B_2$ 排出量为评价标准，得到重度劳动军人对维生素 $B_2$ 的需要量为 1.8 mg/d；Lo[28]研究报道，以尿液维生素 $B_2$ 排出量为评价指标，得到 1~19 岁青年对维生素 $B_2$ 的需要量为 1.5~2.0 mg/d。

血浆中维生素 $B_2$ 的含量可以直接反映机体维生素 $B_2$ 的营养状况[29]。本试验中，随着实

际摄入维生素 $B_2$ 量的增加，血浆中维生素 $B_2$ 含量出现了波动变化；以血浆维生素 $B_2$ 含量为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_2$ 的需要量为 31.68 mg/（匹 • d）。

谷胱甘肽还原酶（glutathione reductase，GR）主要存在于红细胞中，额外加入 FAD，把未活化的 GR 激活，可测的 GR 的总活性。总的 GR 消耗烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸（NADPH）比活化型 GR 消耗的多，在反应体系中，将额外加入 FAD 的吸光度值和未加入 FAD 的吸光度值的比值称为 E-GRAC[30]。在本试验中，随着实际摄入维生素 $B_2$ 量的增加，E-GRAC 逐渐降低，以 E-GRAC 为评价指标，得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_2$ 的需要量为 31.68 mg/（匹 • d）。

尿液中维生素$B_2$的排出量是评价动物机体较常用的指标，一般常用方法有4 h尿负荷试验、24 h尿液维生素$B_2$排出量等方法，在本试验中利用24 h尿液维生素$B_2$排出量测定12月龄伊犁马对维生素$B_2$的需要量。以24 h尿液维生素$B_2$排出量为评价指标，得到12月龄伊犁马对维生素$B_2$的需要量为31.68 mg/（匹·d）。

### 3.3 伊犁马对维生素$B_1$和维生素$B_2$需要量的探讨

在本试验条件下，以血浆维生素 $B_1$ 含量、E-TKA、TPP 效应以及尿液维生素 $B_1$ 排出量和，综合评价得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹 • d）；以血浆维生素 $B_2$ 含量、E-GRAC 以及尿液维生素 $B_2$ 排出量为评价指标，综合评价得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_2$ 的需要量为 31.68 mg/（匹 • d）。而 NRC（2007）[31]标准中以成熟体重为 400 kg 计算，12 月龄马匹对维生素 $B_1$ 的需要量为 19.30 mg/（匹 •d），对维生素 $B_2$ 的需要量为 12.80 mg/（匹 • d）；以成熟体重为 500 kg 计算，12 月龄马匹对维生素 $B_1$ 的需要量为 24.10 mg/（匹 • d），对维生素 $B_2$ 的需要量为 16.1 mg/（匹 • d），本试验结果比 NRC（2007）标准需要量偏高。这可能与本试验马匹能量、蛋白质摄入量高有关。李丽花[13]研究发现，饲粮中糖类物质含量的增加显著提高动物对维生素 $B_1$ 的需要量。Ferraris 等[32]研究发现，高糖、高蛋白质会增加机体对维生素 $B_2$ 的需要量。在本试验中，12 月龄伊犁马粗蛋白质（CP）摄入

量为 970.0 g/d，无氮浸出物（NFE）为 3 670 g/d、消化能（DE）摄入量为 114.68 MJ，而 NRC(2007)标准提供的成熟体重为 400 kg 的 12 月龄马匹对 CP 的需要量为 677 g/d、DE 为 62.76 MJ，成熟体重为 500 kg 的 12 月龄马匹对 CP 的需要量为 846 g/d、DE 为 78.66 MJ。本试验 12 月龄马匹摄入的是高能量、高蛋白质饲粮，提高了机体对维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 的需要量，这可能是导致本试验所得 12 月龄伊犁马维生素 $B_1$、维生素 $B_2$ 需要量高于 NRC(2007)标准的主要原因。

## 4 结　论

在本试验条件下，以血浆维生素 $B_1$ 含量、E-TKA、TPP 效应及尿液维生素 $B_1$ 排出量为评价指标，综合评价得到 12 月龄马对维生素 $B_1$ 的需要量为 48.27 mg/（匹•d）；以血浆维生素 $B_2$ 含量、E-GRAC 及尿液维生素 $B_2$ 排出量为评价指标，综合评价得到 12 月龄伊犁马对维生素 $B_2$ 的需要量为 31.68 mg/（匹•d）。

参考文献：

[1] 孙远明,余群力.食品营养学[M].北京:中国农业大学出版社,2002:95–100.
[2] MANZETTI S,ZHANG J,VAN DER SPOEL D.Thiamin function,metabolism,uptake,and transport[J].Biochemistry,2014,53(5):821–835.
[3] MAKARCHIKOV A F,LAKAYE B,GULYAI I E,et al.Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities:from bacteria to mammals[J].Cellular and Molecular Life Sciences CMLS,2003,60(7):1477–1488.
[4] MORIYAMA Y.Riboflavin transporter is finally identified[J].Journal of Biochemistry,2011,150(4):341–343.
[5] EVANS E T R,EVANS W C,ROBERTS H E,et al.The treatment of a naturally occurring outbreak of bracken staggers in ponies[J].British Veterinary Journal,1951,107:399–411.
[6] CARROLL F D,GROSS H,HOWELL C E.The synthesis of B vitamins in the horse[J].Journal

of Animal Science,1949,8(2):290–299.
[7] TALLAKSEN C M E,BØHMER T,BELL H.Concomitant determination of thiamin and its phosphate esters in human blood and serum by high-performance liquid chromatography[J].Journal of Chromatography B:Biomedical Sciences and Applications,1991,564(1):127–136.
[8] ROSER R L,ANDRIST A H,HARRINGTON W H,et al.Determination of urinary thiamine by high-pressure liquid chromatography utilizing the thiochrome fluorescent method[J].Journal of Chromatography B:Biomedical Sciences and Applications,1978,146(1):43–53.
[9] 陈福华.饲料检验化验员手册[M].长沙:湖南科学技术出版社,2013:202–205.
[10] TAKEUCHI T,NISHINO K,ITOKAWA Y.Improved determination of transketolase activity in erythrocytes[J].Clinical Chemistry,1984,30(5):658–661.
[11] CAPO-CHICHI C D,GUÉANT J L,FEILLET F,et al.Analysis of riboflavin and riboflavin cofactor levels in plasma by high-performance liquid chromatography[J].Journal of Chromatography B:Biomedical Sciences and Applications,2000,739(1):219–224.
[12] SHIBATA K,SUGITA C,SANO M,et al.Urinary excretion of B-group vitamins reflects the nutritional status of B-group vitamins in rats[J].Journal of Nutritional Science,2013,2:e12.
[13] 李丽花.硫胺素、核黄素和烟酰胺对肥胖大鼠能量代谢和空间学习记忆能力的影响[D].硕士学论文.青岛:青岛大学,2014.
[14] CYMBALUK N F,FRETZ P B,LOEW F M.Amprolium-induced thiamine deficiency in horses:clinical features[J].American Journal of Veterinary Research,1978,39(2):255–261.
[15] 潘晓花,王梦芝,付聪,等.饲粮精粗比和添加硫胺素对奶牛体外瘤胃发酵参数及菌群结构的影响[J].动物营养学报,2013,25(1):88–99.
[16] TALLAKSEN C M E,BØHMER T,BELL H.Blood and serum thiamin and thiamin phosphate

esters concentrations in patients with alcohol dependence syndrome before and after thiamin treatment[J].Alcoholism:Clinical and Experimental Research,1992,16(2):320–325.

[17] REINKEN L,STOLLEY H,DROESE W.Biochemical assessment of thiamine nutrition in childhood[J].European Journal of Pediatrics,1979,131(4):229–235.

[18] ZIPORIN Z Z,NUNES W T,POWELL R C,et al.Thiamine requirement in the adult human as measured by urinary excretion of thiamine metabolites[J].The Journal of Nutrition,1965,85(3):297–304.

[19] HÜNSCHE K,WOLF P,LANGE G,et al.Investigations on adverse effects of feeding dried marsh horsetail (*Equisetum palustre*) to ruminants and horses[J].Proceedings of the Nutrition Society Physiol,2010,19(2):132–139.

[20] LONSDALE D.Red cell transketolase studies in a private practice specializing in nutritional correction[J].Journal of the American College of Nutrition,1988,7(1):61–67.

[21] FUKUWATARI T,YOSHIDA E,TAKAHASHI K,et al.Effect of fasting on the urinary excretion of water-soluble vitamins in humans and rats[J].Journal of Nutritional Science and Vitaminology,2010,56(1):19–26.

[22] MCDOWELL L R.Riboflavin[M]//MCDOWELL L R,CUNHA T J.Vitamins in Animal Nutrition:Comparative Aspects to Human[M].Florida:Academic Press,1989:183–209.

[23] EUSSEN S J P M,VOLLSET S E,HUSTAD S,et al.Plasma vitamins $B_2$,$B_6$,and $B_{12}$,and related genetic variants as predictors of colorectal cancer risk[J].Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention,2010,19(10):2549–2561.

[24] HUSTAD S,MCKINLEY M C,MCNULTY H,et al.Riboflavin,flavin mononucleotide,and flavin adenine dinucleotide in human plasma and erythrocytes at baseline and after low-dose riboflavin supplementation[J].Clinical Chemistry,2002,48(9):1571–1577.

[25] 陈金文,马振凯,顾景范.肉用仔鸡核黄素需要量的研究[J].营养学报,1990,12(4):349–354.

[26] BATES C J,PRENTICE A M,PAUL A A,et al.Riboflavin status in Gambian pregnant and lactating women and its implications for Recommended Dietary Allowances[J].The American Journal of Clinical Nutrition,1981,34(5):928–935.

[27] 郭长江,韦京豫,杨继军,等.我军重度劳动部队推荐的核黄素摄入量[J].解放军预防医学杂志,2010,28(4):238–241.

[28] LO C S.Riboflavin status of adolescent southern Chinese:riboflavin saturation studies[J].Human Nutrition Clinical Nutrition,1985,39(4):297–301.

[29] MADIGAN S M,TRACEY F,MCNULTY H,et al.Riboflavin and vitamin $B_6$ intakes and status and biochemical response to riboflavin supplementation in free-living elderly people[J].The American Journal of Clinical Nutrition,1998,68(2):389–295.

[30] PRASAD A P,LAKSHMI A V,BAMJI M S.Interpretation of erythrocyte glutathione reductase activation test values for assessing riboflavin status[J].European Journal of Clinical Nutrition,1992,46(10):753–758.

[31] NRC.Nutrient requirements of horses[S].6th ed.WashingtonDC:National Academies Press,2007:296–299.

[32] FERRARIS R P,DIAMOND J.Crypt-villus site of glucose transporter induction by dietary carbohydrate in mouse intestine[J].The American Journal of Physiology,1992,262(61):1069–1073.

Requirements of Vitamin $B_1$ and Vitamin $B_2$ of 12-Month-Old *Yili* Horses

CHEN Junhong HE Xueman DENG Haifeng LI Xiaobin LIU Zhen MA Jun GAN

*Corresponding author, professor, E-mail： yangkailun2002@aliyun.com (责任编辑 菅景颖)

Jianrong TANG Xuemei YANG Kailun*

(*Xinjiang Key Laboratory of Meat & Milk Production Herbivore Nutrition, Xinjiang Agricultural University, Urumqi* 830052, *China*)

Abstract: In order to get the vitamin $B_1$ and vitamin $B_2$ requirements of *Yili* horses, the effects of different thiamine and riboflavin intakes on blood and urinary related indices of 12-month-old *Yili* horses were studied. Thirty-five healthy male *Yili* Horse with the age of 12 months±5 days and the average body weight of (245.28±18.36) kg were randomly divided into 5 groups (trial groups I, II, III, IV and V), and each group had 7 horses. The horses in trail groups I, II, III, IV and V were fed with the same basal diet and added 0, 16, 32, 48 and 64 mg/(horse·d) of vitamin $B_1$ and added 0, 10, 20, 30 and 40 mg/(horse • d) of vitamin $B_2$ for 20 days, respectively. The practical intakes of vitamin $B_1$ and vitamin $B_2$ in trail groups I, II, III, IV and V were 19.00, 33.49, 48.27, 62.96, 77.53 and 21.95, 31.68, 41.77, 51.53, 61.26 mg/（horse·d）, respectively. The results showed as follows: with the practical intake of vitamin $B_1$ increasing, plasma vitamin $B_1$ content, erythrocyte transketolase activity （E-TKA） and urinary vitamin $B_1$ output increased gradually, while the thiamin pyrophosphate effect (TPP-effect) decreased gradually. The plasma vitamin $B_1$ content in trail group Ⅰ was significantly lower than that in trail group Ⅲ （$P<0.05$）, and extremely significantly lower than that in trail groups Ⅳ and Ⅴ （$P<0.01$）. The E-TKA in trail group Ⅰ was extremely significantly lower than that in trail groups Ⅲ, Ⅳ and Ⅴ （$P<0.01$）. The TPP-effect in trail group Ⅰ was significantly higher than that in trail group Ⅲ （$P<0.05$）, and extremely significantly higher than that in trail groups Ⅳ and Ⅴ（$P<0.01$）. The urinary vitamin $B_1$ output in trail group Ⅰ was extremely significantly lower than that in trail groups Ⅲ, Ⅳ and Ⅴ （$P<0.01$）. With the practical intake of vitamin $B_2$ increasing, the plasma vitamin $B_2$ content showed a fluctuating change, the erythrocyte glutathione reductase activity coefficient (E-GRAC) decreased gradually, and the urinary vitamin $B_1$ output increased gradually. The plasma vitamin $B_2$ content in trail group Ⅰ was significantly lower than that in trail groups Ⅲ and Ⅳ（$P<0.05$）, and extremely significantly lower than that in trail group Ⅴ （$P<0.01$）. The E-GRAC in trail group Ⅰ was extremely significantly higher than that in trail groups Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ and Ⅴ（$P<0.01$）. The urinary vitamin $B_2$ output in trail group Ⅰ was extremely significantly lower than that in trail groups Ⅲ, Ⅳ and Ⅴ （$P<0.01$）. Base on the results of this study, the optimal requirements of vitamin $B_1$ and vitamin $B_2$ are 48.27 and 31.68 mg/(horse·d) for 12-month-old *Yili* horses, respectively.

Key words: *Yili* horses; vitamin $B_1$; thiamine; vitamin $B_2$; riboflavin; plasma; urinary; requirement